

メタロミクスによる芍薬の品質評価と代替品種の探索

島田佳代子

近年、代替医療や予防医学が重要視されてきている中、漢方医学・生薬への関心が高まり、国内での需要も増加している。その一方で、日本は生薬総使用量の約8割を中国からの輸入に依存しており¹⁾、中国国内での価格高騰などが危ぶまれる昨今、生薬の安定供給を図るため生薬自給率の向上が必須の課題となっている。

近年の調査によると、生薬の日本国内における総使用量の1位は甘草であり、2位が芍薬となっている。1位の甘草はほぼ100%を輸入に頼っている一方で、芍薬はわずかながら国内からも供給されている¹⁾。芍薬は古来より、奈良県を中心に薬用を目的とした系統（和芍・大和系）が盛んに栽培されており、1986年の報告では国内需要量の40–50%を自給していると述べられていた²⁾が、前述の調査における2010年の国内自給率は4%にも満たず、現在ではその多くを中国からの輸入に依存している¹⁾。そこで本稿では、芍薬の国内生産量回復を志向して、芍薬の科学的品質評価法の構築およびそれを用いた国産の芍薬の高品質性の裏づけと、自給率向上のために有用な品種の探索について紹介する。

メタロミクスに基づく品質評価法の構築

芍薬の定義と基原植物 前述の通り、日本では芍薬の供給の大部分を中国からの輸入に頼っているが、中国では古来、芍薬を赤芍と白芍に分類して用いている。中国における医薬品の公定書である中華人民共和国薬典では白芍を「*P. lactiflora*を湯通しし、皮を去り、乾燥した根」、赤芍は「*P. lactiflora*または*P. veitchii*の乾燥した根」と規定している³⁾が、その定義は時代や地域によってさまざまである⁴⁾。古典に示されている両者の薬効も異なっているが、近年の研究により、市場品の赤芍と白芍では含有有機成分の薬物動態学的性質の違いがあることなども科学的に示されてきており^{5,6)}、両者の鑑別は適正使用の観点からも必須であると考えられる。なお、日本における公定書である日本薬局方にはこうした赤芍、白芍といった規定はなく、芍薬を「*Paeonia lactiflora* Pallasの根である」とのみ定義づけている⁷⁾。図1に*P. lactiflora*および*P. veitchii*の地上部と地下部を示した。地上部の形態は顕著に異なっているものの、一般に生薬として流通する地下部のみでは外見からの鑑別は困難で



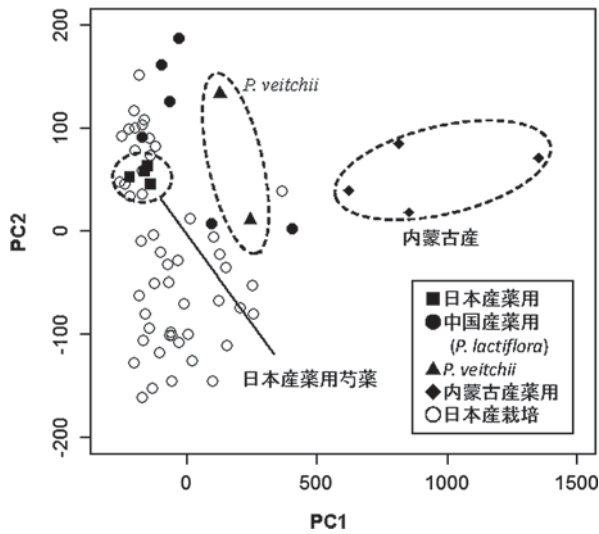
図1. *P. lactiflora* (左) と *P. veitchii* (右) の地上部 (上段) および地下部 (下段)¹¹⁾

あり、含有成分などによる評価方法の確立が必要であると考えられる。

含有成分による生薬の品質評価 天然由来である生薬には複数の成分が含まれ、単一成分による評価は困難である。近年では、メタボロミクスによる含有有機成分の網羅的な評価が多く試みられており、その評価と色や香りなど五感による古来の官能的品質評価を関連づける検討もなされている^{8,9)}。

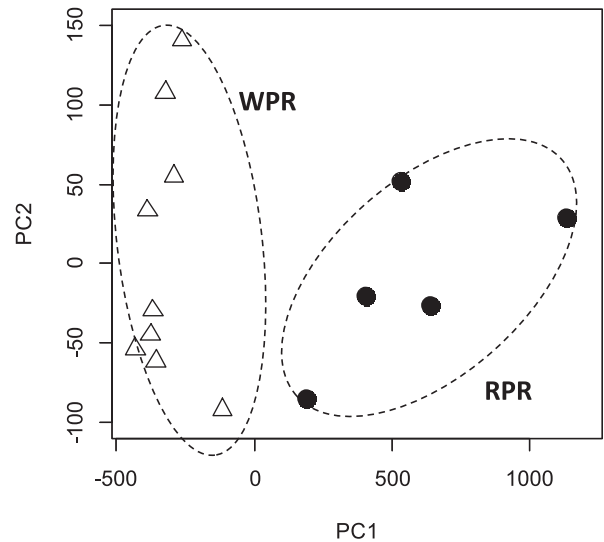
一方、こうした評価を行うにあたり、産地やロットなどの情報が確実であるサンプルを多く収集するのは困難である。過去に収集されたサンプルも貴重な試料となりえるが、用いるにあたっては保存期間や保存条件が含有有機成分に影響を及ぼす可能性がある。また、生薬は製造過程において切断・乾燥などの種々の加工を受けるが、こうした加工が生薬の含有有機成分に影響を与える可能性も示唆されている¹⁰⁾。そこで、我々は外的条件に影響を受けにくいと考えられる無機成分に着目した、inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) により測定した網羅的な無機成分のデータを統計学的手法で解析し、評価法の確立を試みた。

メタロミクスによる芍薬の品質評価 検討を行うにあたり、我々は日本および中国で薬用として使用可能な生薬（薬用芍薬）16検体および富山県立薬用植物指導



	<i>P. lactiflora</i>	<i>P. veitchii</i>
<i>P. lactiflora</i>	64	0
<i>P. veitchii</i>	0	2

図2. 全サンプルによるPCA, SIMCA結果¹¹⁾



Genetic type	WPR	RPR
WPR	9	0
RPR	0	5

図3. 薬用芍薬の遺伝子型による鑑別¹¹⁾

センターで栽培された栽培品種の芍薬50検体の計66検体 (*P. lactiflora*:64検体, *P. veitchii*:2検体) を用いた。薬用芍薬のうち、日本産が4検体、内蒙古自治区4検体、中国産8検体 (うち2検体が*P. veitchii*) であった。すべてのサンプルについて核リボソームDNAのintergenic transcribed spacer (ITS) 領域について遺伝子解析を行い、*P. veitchii*を鑑別するとともに、*P. lactiflora*検体について二つのsubcladeに分類し、日本産の薬用芍薬 (4検体) が分類された側をWPR、もう一方をRPRと名づけた^{11,12)}。

ICP-MSにより無機元素を半定量的に測定し、すべてのサンプルにおける全元素の測定結果を用いて主成分分析 (PCA) を行った。その結果、内蒙古産の4検体が他とは離れた位置にプロットされるとともに、日本産薬用芍薬の4検体が小範囲に集中してプロットされた。このことから、日本産薬用芍薬の品質の均一性が推察できる。また*P. veitchii* 2検体も近くにプロットされ、他の*P. lactiflora* 検体と鑑別可能である可能性が示された。そこで、soft independent model class analogy (SIMCA) を行ったところ、検体数は少ないものの*P. lactiflora*との鑑別を行える可能性を示唆することができた (図2)¹¹⁾。

薬用芍薬の鑑別 次に、より詳細な検討を行うため、日本および中国で生薬 (薬用) として利用されているサンプルのみを用いた検討を行った。前述の薬用芍薬16

検体のうち、図2の結果により鑑別可能であった*P. veitchii* 2検体を除いた14検体について、ICP-MSによる測定結果を用いてPCAを行ったところ、遺伝子型によりそれぞれのサンプルがクラスターを形成し、SIMCAによっても分類が可能であることが確認できた (図3)。また元来、植物における含有無機成分は栽培された土壌の影響を強く受けると言われてきたが、この手法を用いることで、我々は産地 (日本、内蒙古自治区、内蒙古自治区以外の中国) でも分類することにも成功しており、これらのデータから、無機元素の網羅的測定結果を統計学的に解析するメタロミクス的手法が、芍薬の鑑別に有用であることを示唆した¹¹⁾。

メタロミクスを用いた代替品種の探索

通常、薬用芍薬の栽培には3-5年もの年月を要し、その間にも摘芽・摘蕾などの煩雑な作業が必要¹³⁾である。こうしたコスト面の問題が自給率低下の原因の一つとなっていると考えられる。そこで我々は、主に切花用に用いられる栽培品種の芍薬に着目した。栽培品種の芍薬の根が薬用として利用できれば、地上部・地下部をともに商品とすることが可能となり、コスト面の問題を解決する一助となる。

この検討を行うに当たり、我々は前項の実験で使用した国産薬用芍薬4検体を基準として用いた。前述の遺伝

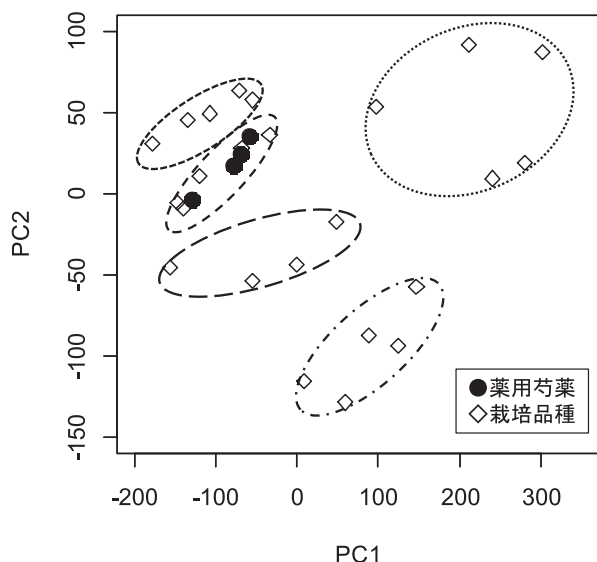


図4. WPR型サンプルのPCA結果 (投稿中)

子解析では国産の薬用芍薬のサンプルがすべて同一の subclade (WPR) に分類されたが、遺伝子解析の結果これら薬用芍薬と同じWPR型に分類された栽培品種24検体を代替品種探索の対象とした。

まず、これら28検体のICP-MSによる無機元素測定結果を用いてPCAを行った。その結果、図2の結果と同様に、国産の薬用芍薬がきわめて小さな範囲にまとまってプロットされた(図4)。このことから、国産薬用芍薬はメタロミクスの観点からきわめて均一性が高いと考えられる(投稿中)。

また、図4では国産の薬用芍薬のきわめて近傍に栽培品種のサンプルも複数プロットされている。これらの品種が均一性の高い国産薬用芍薬と類似の無機元素含有パターンを有していれば、薬用としての利用可能性を示唆することができる。

そこで我々は、図4に示したように検討に用いたサンプルを全部で5つのクラスターに分け、back propagation artificial neural network (BPANN) によりモデルの構築を行った。モデル構築においては、genetic algorithm (GA) により使用する元素数をしばったのち、解析を行った。その結果、比較的良好なモデルを構築することができ($Q^2 = 0.822$)、図4に示した分類が適切であったことを示唆した。このことから、図4の解析において国産薬用芍薬と同一クラスターにプロットされた栽培品種5検体は、メタロミクスの観点から見て国産薬用芍薬と似た品質を有していると考えられ、薬用芍薬の代替品種となりうる可能性を示した(投稿中)。

おわりに

今回、我々はメタロミクスの観点から含有無機成分による芍薬の鑑別および品質評価を試みた。検討の結果、日本で育種・栽培されてきた国産の薬用芍薬サンプルについて、含有無機成分においてきわめて均一性が高いことを示すことができたが、これは育種・栽培による「選択圧」の影響を示すものであると我々は考えている。以前の我々の検討では、国産の薬用芍薬と園芸品種の芍薬を含む製剤の臨床効果に差があり、含有している鉄の状態の差がそれに関与している可能性を示した¹⁴⁾が、さらなる検討を行うことで成分面・薬効面双方から国産薬用芍薬の高品質性について明らかにしていく必要があると考えている。

さらに、我々は構築した評価法を用いてメタロミクスの観点から薬用芍薬の代替となる品種の探索を試みたが、近年では、ペオニフロリンなどの成分含有量や乾燥減量、灰分などの生薬的性質(品質)の改善¹⁵⁻¹⁷⁾や、摘芽・摘蕾の省力化といった栽培面の効率化¹⁸⁾などさまざまな観点から薬用として有用な芍薬品種の探索が試みられている。本検討を含め、そうした多方面からの検討を複合し、より有用な品種の探索を行っていくことで、芍薬の日本における自給率回復に寄与できると考えている。

文 献

- 1) 日本漢方生薬製剤協会: <http://www.nikkankyo.org/aboutus/investigation/pdf/shiyouyou-chousa02.pdf> (2013).
- 2) 西澤 信ら: 生薬学雑誌, **40**, 413 (1986).
- 3) 国家薬典委員会編: 中華人民共和国薬典, 中国医薬科技出版社, 北京 (2010).
- 4) 御影雅幸ら: 日本東洋医学雑誌, **60**, 419 (2009).
- 5) Wang, C. H. et al.: *J. Ethnopharmacol.*, **117**, 467 (2008).
- 6) Feng, C. et al.: *J. Ethnopharmacol.*, **130**, 407 (2010).
- 7) 厚生労働省: 第十六改正日本薬局方 (2011).
- 8) Tarachiwin, L. et al.: *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **48**, 42 (2008).
- 9) Tianniam, S. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **109**, 89 (2010).
- 10) 姉帯正樹ら: 道衛研所報, **52**, 86 (2002).
- 11) Shimada, K. et al.: *J. Nat. Med.*, **68**, 407 (2014).
- 12) 白石史遠ら: 日本薬学会第129年会, 28P-am011 (2009)
- 13) 厚生省薬務局: 薬用植物 栽培と品質評価 Part 3, p. 45, 薬事日報社 (1994).
- 14) Shimada, K. et al.: *J. Ethnopharmacol.*, **132**, 438 (2010).
- 15) 橋爪 崇ら: *Nat. Med.*, **53**, 385 (1998).
- 16) 白鳥奈緒美ら: *Nat. Med.*, **59**, 17 (2005).
- 17) 姉帯正樹ら: 道衛研所報, **57**, 61 (2007).
- 18) 田村隆幸ら: 富山県薬事研究所年報, **37**, 57 (2010).